

ID: 168

Area di Laboratorio

Orale

Parole chiave: varianti emoglobiniche, screening, test genetici, prevenzione, talassemia

COMPLESSITÀ E SORPRESE NELLA DIAGNOSTICA EMOGLOBINICA IN FUNZIONE PREVENTIVA: HB VILLEJUIF, LA SECONDA SEGNALEZIONE IN ITALIA

antonio amato¹, paola rimessi², ofelia sarra¹, anna venturoli², mariapia cappabianca¹, marina taddei masieri², paola di biagio¹, daniela zeì¹

¹ALMAVITA Coop. Soc., Italia; ²U.O. di Genetica Medica, Azienda Ospedaliero Universitaria di Ferrara, Italia; amministrazione@almavitaroma.org, rsp@unife.it

Ci è stata inviata a fini preventivi una coppia in corso di gravidanza.

Il sig. RM aveva effettuato screening scolastico (Centro Studi Microcitemie Roma-2005) con diagnosi di "sospetta β microcitemia". Da esami recenti si evidenziavano valori normali di Hb tot. (15,8 g/dl), con MCV ai limiti inferiori (78fl) e tendenziale poliglobulia (GR 5,7 $10^6/mm^3$). Normali i parametri marziali. Allo studio emoglobinico: HbA₂= 3,8%; HbF=1,5% (HPLC).

La sig.ra BF presentava normali valori di Hb tot. (12,3 g/dl) con lieve riduzione di MCV (77fl) e MCH (26 pg) e normali valori dei parametri marziali. In HPLC il valore di HbA₂ era pari a 4,6%, con HbF normale (1,0%) ed assenza di frazioni varianti.

Entrambi avevano effettuato la ricerca delle 23 mutazioni più frequenti nel gene β globinico, mediante Reverse Dot Blot (RDB), che utilizza sonde mutazione-specifiche legate a una membrana di nitrocellulosa che "catturano" le sequenze di DNA complementari eventualmente presenti nel prodotto di amplificazione specifico (PCR). L'esito era stato NEGATIVO.

Considerata l'incongruenza tra quanto emerso dall'analisi di I livello e quella molecolare, è stato richiesto studio molecolare dei geni α e β presso U.O. Genetica Medica - Az. Ospedaliera Universitaria di Ferrara.

La ricerca di delezioni/duplicazioni nel cluster α globinico mediante MLPA ha dato esito negativo in entrambi probandi. L'analisi di sequenza del gene β ha evidenziato nella sig.ra BF presenza in eterozigosi della variazione missenso p.Thr124Ile, corrispondente alla variante Hb Villejuif. La sequenza del gene β del sig. RM non ha evidenziato variazioni nucleotidiche di significato patologico, ma la ricerca di delezioni/duplicazioni nel cluster β globinico ha evidenziato una piccola duplicazione, di circa 2Kb che coinvolge l'esone 3 del gene G gamma e la regione intergenica compresa tra i geni G gamma e A gamma. L'effetto funzionale di tale alterazione non è noto. Lo studio del gene KLF1 non ha rivelato alterazioni. Pertanto il caso non è concluso.

Questo riscontro consente di confermare alcuni principi:

l'analisi molecolare per un certo numero di mutazioni del gene β non può essere considerata conclusiva;

l'incongruenza tra risultati dello studio di I livello e quelli dello studio molecolare devono destare sospetto ed indurre ulteriori approfondimenti;

la diagnostica emoglobinica è un sistema complesso con numerosi difetti rari per il cui riconoscimento necessitano strutture di alta specializzazione.